

**Untersuchungen über den Eintritt der Totenstarre
an isolierten, menschlichen Skelettmuskelfasern
unter dem Einfluß von ATP**

von

Wolfgang Freude

aus

Karlshafen

1970

1971 № 50

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. Dr. E. Weinig

**Untersuchungen über den Eintritt der Totenstarre
an isolierten, menschlichen Skelettmuskelfasern
unter dem Einfluß von ATP**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Wolfgang Freude
aus
Karlshafen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Schiefer

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 22. 12. 1970

Meinen Eltern gewidmet

Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig möchte ich
für die freundliche Überlassung des Themas
und die jederzeit gewährte Unterstützung mei-
nen herzlichen Dank sagen.

Herrn Dr. Dr. P. Zink danke ich für die wis-
senschaftlichen Anregungen und die ständige
Hilfe und Beratung bei der Durchführung der
Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. <u>Über die Bedeutung der Totenstarre aus zellphysiologischer Sicht</u>	5
2. <u>Über das Versuchsmaterial Muskel</u>	6
21. Zum Aufbau des quergestreiften Muskels	6
22. Zur Theorie der Kontraktion des vitalen Muskels	9
23. Über die mechanischen Eigenschaften des Skelettmuskels	13
3. <u>Die Totenstarre</u>	17
31. Theorien über die Ursache der Starre	17
32. Der Verlauf der Totenstarre	20
<u>Experimenteller Teil</u>	23
4. <u>Grundlagen und Methodik der Messungen</u>	23
41. Der Versuchsaufbau	23
42. Der Versuchsgang	28
421. Manuell gesteuerte Versuche	28
422. Automatisch gesteuerte Versuche	28
423. Die Versuchsmaterialien	29

	Seite
5. <u>Ergebnisse der Dehnungsversuche</u>	31
51. Dehnung bis zu konstanten Belastungs- maxima	31
52. Dehnung um konstante Wegstrecken	40
6. <u>Diskussion der Ergebnisse</u>	53
61. Versuche in ATP-freier Tyrode-Lösung	53
62. Versuche in ATP-haltiger Tyrode-Lösung	55
7. <u>Zusammenfassung</u>	59
8. <u>Literaturverzeichnis</u>	60

1. Über die Bedeutung der Totenstarre aus
zellphysiologischer Sicht

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit den Veränderungen der mechanischen Eigenschaften frischer, isolierter, menschlicher Skelettmuskelfasern beim Übergang in den Zustand der Totenstarre. Insbesondere wurde der Einfluß von Adenosintriphosphat (ATP) auf den Eintritt der Starre untersucht.

Wie NYSTEN, der 1816 die Totenstarre als "letzte supravitale Anstrengung des sterbenden Muskels" bezeichnete, betonten auch Biochemiker und Physiologen immer wieder die auffallend ähnlichen Erscheinungen bei der Kontraktion und der Totenstarre. So bezeichnet H. REICHEL 1960 in seinem Buch "Muskelphysiologie" die Untersuchung der postmortalen Starre als geeignete Methode, um wesentliche Vorgänge der Muskelkontraktion zu klären. Der Autor weist auf die Langsamkeit des Erstarrungsvorganges und auf das Fehlen von störenden Faktoren, wie Membranpotentialen und reizbedingten Änderungen der Ionenkonzentrationen hin. Dadurch seien gute Beobachtungsmöglichkeiten gegeben.

In zahlreichen Experimenten wurden die Zusammenhänge zwischen ATP und Totenstarre am Tiermuskel untersucht. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkung von ATP an menschlichen Muskeln nach dem Tod zu überprüfen.

Es wurden isolierte Skelettmuskelfasern untersucht, da eine gleichmäßige Verteilung von ATP im Versuchsmaterial durch Diffusion anzustreben war. Die Aufbe-

reitung zu einem Muskelbrei oder durch Glycerinextraktion zu einem Fasermode'll wurde vermieden, um Änderungen im postmortalen Verhalten möglichst auszuschließen.

Zunächst soll der Aufbau der menschlichen Skelettmuskulatur kurz beschrieben werden.

2. Über das Versuchsmaterial Muskel

21. Zum Aufbau des quergestreiften Muskels

Der gesamte Skelettmuskel wird von einer bindegewebigen Hülle, der Fascie umschlossen. Durch Bindegewebssepten wird er in mehrere, einander parallele Stränge aufgeteilt. Diese sind aus vielkernigen, etwa 10-100 μ m dicken (WALLRAFF, 1963) und nach SCHIMMERT (1934) 0,5 mm - 32 cm langen Zellen, den Muskelfasern aufgebaut. Zwischen den von je einer Hüllmembran (Sarkommembran) umschlossenen Skelettmuskelfasern bestehen keine Anastomosen, ausgenommen in den Haut- und Schleimhautmuskeln des Gesichtes (STÖHR, 1951). Nach FENEIS (1935, 1951) sind die Bindegewebsfasern der Sarkommembran locker spiralg angeordnet, straffen sich erst bei äußerster Belastung der Muskelfasern und erhöhen dann die Zerreißfestigkeit.

Die einzelnen Muskelfasern bestehen aus vielen parallel angeordneten Elementarfibrillen von 50 bis 100 μ m Durchmesser, wie elektronenmikroskopische Unter-

suchungen von HALL (1946), FARRANT und MERCER (1952) gezeigt haben. Die Elementarfibrillen sind durch senkrecht zur Faserachse liegende Quermembranen (Z-Linien) unterbrochen. Die Fibrillen des Skelettmuskels sind wie die Fasern quergestreift: stark doppelbrechende Schichten (A-Abschnitte, anisotrop) wechseln in Längsrichtung mit schwach doppelbrechenden Schichten (I-Abschnitte, isotrop) ab. Die I-Abschnitte sind durch die Z-Linie halbiert, in der Mitte der A-Abschnitte befindet sich die aktinfreie H-Zone (Abb. 1)

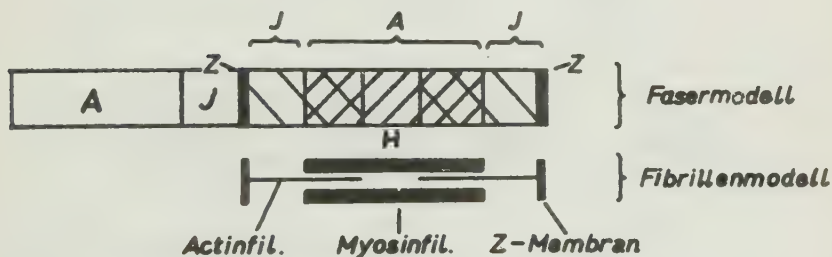


Abb. 1 Schematische Darstellung einer Muskel-faser im lichtmikroskopischen und einer Fibrille im elektronenmikroskopischen Bild

Die Erklärung für die Querstreifung der Myofibrillen fand 1953 HUXLEY, der elektronenmikroskopisch in ultradünnen Querschnitten von quergestreiften Kaninchenmuskeln zwei verschiedene Typen von Eiweißfilamenten mit unterschiedlichem Durchmesser feststellte. Durch fraktionierte Eiweißextraktion bewies er, daß die dickeren Filamente aus Myosin, die dünneren aus Actin bestehen.

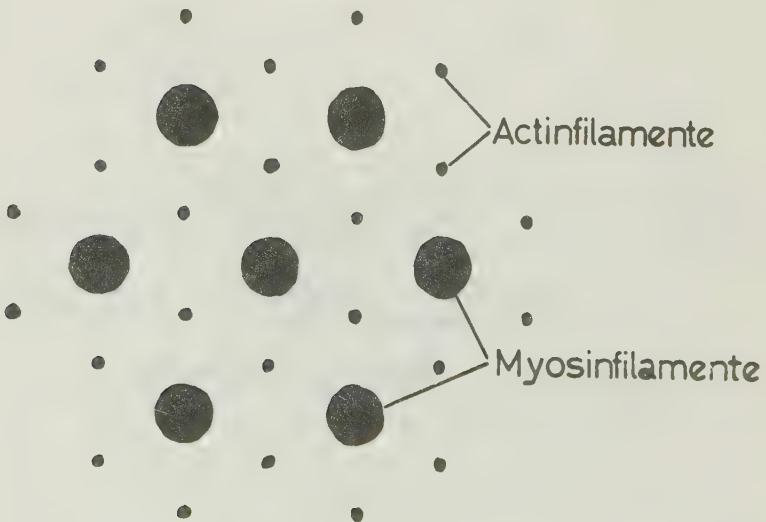


Abb. 2

Hexagonales Schema des Aufbaues einer quergestreiften Muskelfaser im A-Abschnitt

(nach H. E. HUXLEY 1956)

22. Zur Theorie der Kontraktion des vitalen Muskels

Aufgrund der beschriebenen Anordnung der Proteinfilamente entwickelte HUXLEY 1956 die in der neueren Literatur vorherrschende "Gleittheorie" (sliding filament theory), nach der bei Muskelkontraktion und Muskeldehnung die Actin- und Myosinfilamente teleskopartig aneinander vorbeigleiten, ohne ihre Eigenlänge wesentlich zu verändern.

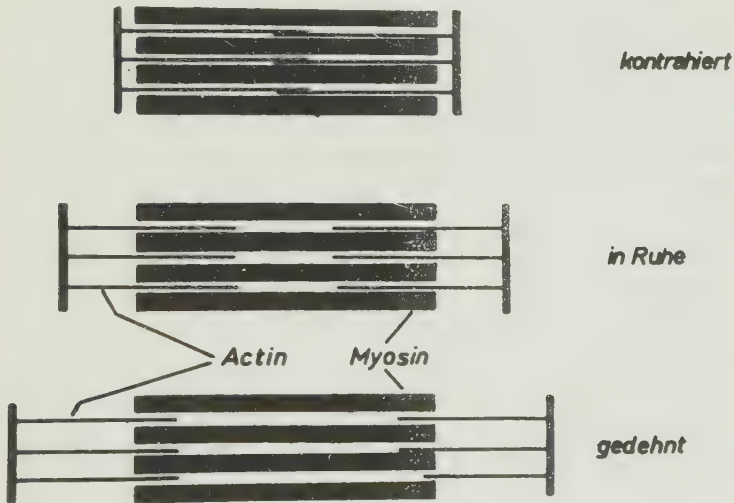


Abb. 3 Schema der Struktur einer quergestreiften Muskelfaser bei Dehnung, Ruhe und Kontraktion.
Dicke Filamente Myosin, dünne Filamente Actin (HUXLEY 1956)

Die 1934 von WEBER aufgestellte Theorie, daß die Längenänderung durch Faltung und Entfaltung von Fadenmolekülen zustandekommt, besitzt auch nach Ansicht von WEBER heute keine Gültigkeit mehr.

Mit der "sliding filament theory" wird die Mechanik der Bewegung der Proteinfilamente erklärt, nicht aber die energetische Ursache.

Nach der Entdeckung des Nucleotids ATP ($M = 507$) im Skelettmuskel durch LOHMANN (1934) gelang es ENGELHARDT und LJUBIMOVA 1939 erstmals, die Kontraktion von "Actomyosinfadenmodellen" bei Konzentrationen von 10^{-3} bis 10^{-2} Mol ATP/l (= 51 - 510 mg %) zu beobachten. Sie nahmen an, daß Myosin die Eigenschaft hat, ATP in ADP zu spalten und stellten für die Myosin-ATPase keine Wirkung unter pH 4 und ein Aktivitätsoptimum bei pH 7 fest.

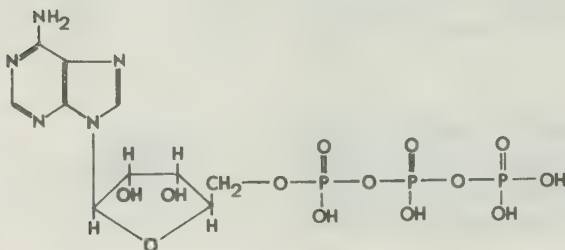


Abb. 4 Struktur des ATP-Moleküls

SZENT-GYÖRGYI stellte zwischen 1943 und 1945 Versuche mit Mg-ATPat in Actomyosin Gelen an, die er durch Extraktion aus Muskelbrei erhielt. Er fand Zusammenhänge zwischen Fibrillenkontraktion und ATP-Abbau; eine Dissoziation des Actomyosinfadens in Actin und Myosin, die mit einer Erschlaffung einhergeht, ist mit einem Ansteigen der ATP-Konzentration verbunden. Diese "Weichmacherwirkung" des ATP zeigt sich an isolierten "Myofibrillen" die sich aus einem Actomyosin Gel herausziehen lassen, erst bei Konzentrationen über $3 \cdot 10^{-2}$ Mol ATP/l (= 1530 mg %), in frischem Muskelmaterial bereits bei $1,5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l (76 mg %). Die extrahierten Myofibrillen unterscheiden sich vom frischen Muskel durch das Fehlen der wasserlöslichen Sarkoplasmafraktion. Da in den sarkoplasmafreien Myofibrillen eine sehr viel höhere ATP-Konzentration eine Kontraktion bewirkte, als im natürlichen Muskel, nahm MARSH (1952) an, daß ein Hemmfaktor für die ATPase-Wirkung in der wasserlöslichen Sarkoplasmafraktion enthalten ist. BENDALL stellte 1954 fest, daß es sich bei der ATPase-Hemmung um eine Wirkung der Myokinase handelt. Der Hemmfaktor, genannt MARSH-BENDALL-Faktor, wird von Mg^{++} -Ionen aktiviert, von Ca^{++} -Ionen inaktiviert. Damit ist bei erhöhter Ca^{++} -Konzentration die ATPase-Aktivität erhöht, bei hoher Mg^{++} -Konzentration verringert.

Verringern läßt sich die Myosin-ATPase-Aktivität durch Zugabe hoher Konzentrationen von ATP (über $3 \cdot 10^{-2}$ Mol/l R. HAMM 1956/57). Durch Salyrgan soll die Fermentaktivität blockiert werden (KUSCHINSKY und TURBA 1950, WEBER 1951, PORTZEHL 1952).

Andere Versuche von KUSCHINSKY und TURBA (1950) ergaben, daß bei Blockierung der SH-Gruppen des Myosins mit Sulfhydrylreagentien keine Kontraktion mehr erzielt werden kann. Die SH-Gruppen sind also notwendig für die Bildung der Actomyosinbindung.

Ein genaues Bild von den biochemischen Vorgängen zwischen ATP und Actomyosin bei der Kontraktion läßt sich noch nicht geben. Nach Vorstellungen von SZENT-GYÖRGYI liegt im ruhenden Muskel ein System vor, in dem die ATPase-Wirkung durch Ca^{++} -Mangel gehemmt ist. Kommt es durch Reizung (z.B. Innervation) zum Ca^{++} -Einstrom, so gibt nach H.H. WEBER (1958) ATP eine Phosphatgruppe an Actin ab. WEBER nimmt an, daß die Phosphatgruppe mit einer Aminosäuregruppe eines Actin-Moleküls reagiert. Nach dieser Theorie würde die Phosphatgruppe am Actin durch eine SH-Gruppe des Myosins ersetzt, die Actomyosinbindung könnte anschließend von der Myosin-SH- auf eine benachbarte Myosin-OH-Gruppe übergehen. Alle diese Reaktionen wären exergonisch und hätten eine Verkürzung des Actomyosinfadens zur Folge, wie sich aus der Struktur der beteiligten Moleküle schließen läßt. Diese Theorie erklärt auch hinreichend die Essentialität der SH-Gruppen.

Andere Autoren nehmen für den Kontraktionsvorgang elektrostatische Anziehungskräfte an, die durch die Phosphat-Protein-Bindung zur Wirkung kommen.

23. Über die mechanischen Eigenschaften des Skelettmuskels

Die mechanischen Eigenschaften eines Körpers lassen sich durch seine Elastizität und seine Plastizität beschreiben.

Elastizität ist die Fähigkeit eines Körpers, kinetische Energie durch Deformation zu speichern und wieder abzugeben, indem die Formänderung rückgängig gemacht wird. Der Elastizitätsmodul (E-Modul, Young'scher Modul) ist ein Maß für den Widerstand, den ein Körper seiner elastischen Verformung entgegensetzt. Um ihn zu bestimmen, wird beispielsweise der Körper um verschiedene Wegstrecken (Δl) gedehnt und die dabei auf ihn wirkenden Kräfte (p) gemessen. Bei Körpern, die dem Hooke'schen Gesetz gehorchen, gilt:

$$E = \frac{p/q}{\Delta l/l_0}$$

wobei bedeuten:

p = Kraft

q = Querschnitt

l_0 = Länge bei Spannung 0

Δl = Längenänderung

Das Hooke'sche Gesetz gilt für ideal elastische, beispielsweise kristalline Körper. Bei Körpern wie z.B. Muskelgewebe, die dem Hooke'schen Gesetz nicht gehorchen, wird der E-Modul definiert als Steigung im

Spannungs-Dehnungs-Diagramm.

$$E = \frac{\text{Spannung}}{\text{rel. Längenänderung}}$$

Das Spannungs-Dehnungs-Diagramm des Muskels zeigt eine zur Längensachse konvexe Kurve.

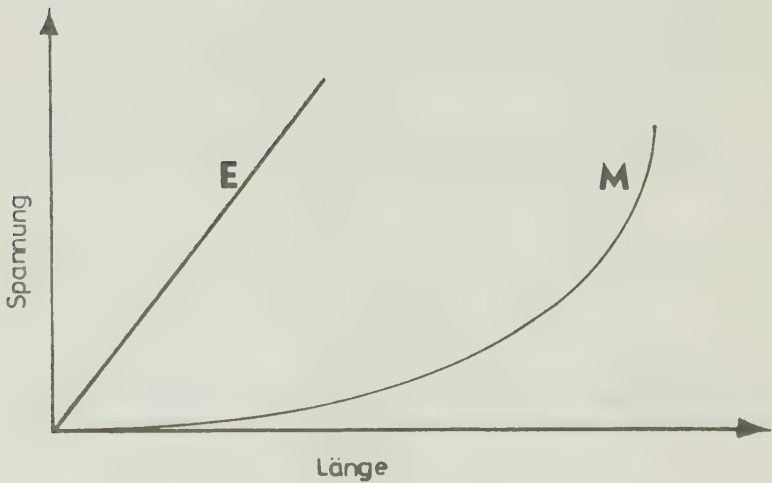


Abb. 5 Spannungs-Dehnungs-Diagramm für einen ideal elastischen Körper (E) und für eine Muskelfaser (M)

Plastizität besitzt ein Körper, der die Formänderung nach dem Aufhören der einwirkenden Kraft nicht vollständig rückgängig machen kann, da ein Teil der von ihm aufgenommenen kinetischen Energie in innere Reibung umgewandelt wird. Körper mit plastischen Eigenschaften zeigen bei Dehnungs- und Entdehnungsvorgängen das Phänomen der Hysteresis; nach einer erzwungenen Längenänderung kehren sie nicht vollständig auf die Ruhe-Länge zurück. Diese Eigenschaft trifft für Muskelfasern zu.

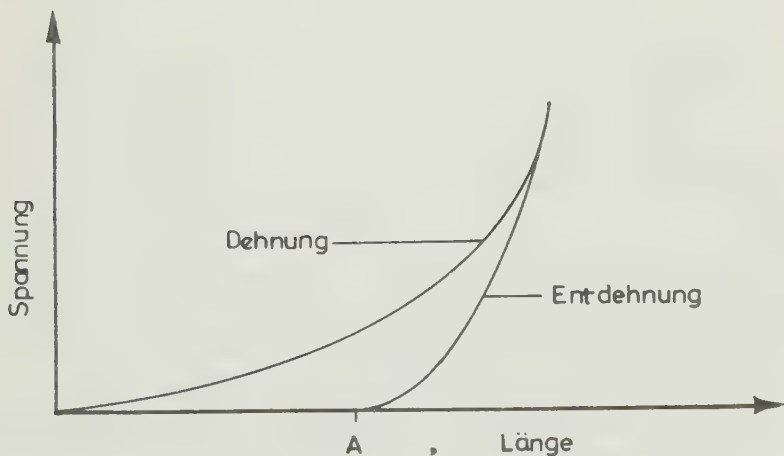


Abb. 6 Dehnungs- und Entdehnungskurve des ruhen-
den Muskels (n. SULZER 1928)

Ebenfalls eine Folge der inneren Reibung des Muskels ist sein visköses Verhalten. Eine schnell durchgeführte Dehnung erzeugt eine höhere Spannung als der gleiche Vorgang bei langsamem Verlauf. Gut erkennbar ist der Unterschied zwischen "statischer" und "dynamischer" Elastizität bei plötzlicher Dehnung mit anschließendem Verharren. Hierbei steigt die Spannung während der Dehnung rasch an und fällt anschließend bei unveränderter Länge zuerst rasch und später langsam ab.

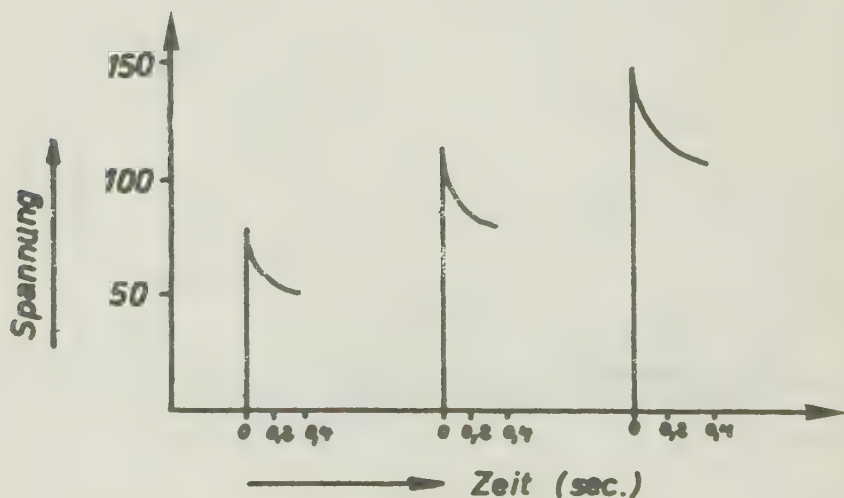


Abb. 7 Zeitlicher Verlauf der elastischen Nachwirkungen nach plötzlicher Dehnung im Herzmuskelfaserbündel des Frosches (LUNDIN 1944).

3. Die Totenstarre =====

31. Theorien über die Ursache der Starre

Eine der auffälligsten postmortalen Veränderungen des Körpers ist die Versteifung der Glieder, die Totenstarre. Schon frühzeitig erkannte man als Ursache dieser Erscheinung das Erstarren der Muskeln, das von NYSTEN 1816 als "letzte supravitale Anstrengung des absterbenden Muskels gegen die Tätigkeit der chemischen Kräfte" interpretiert wurde (vitalistische Theorie).

BRÜCKE (1842) führte die Totenstarre auf eine der Blutgerinnung analoge Fibringerinnung im Muskel zurück, während KÜHNE (1864) die Plasmagerinnungstheorie vertrat. Ihm war es gelungen, die Gerinnung eines von ihm hergestellten Preßsaftes aus gefrorenem Muskelbrei zu beobachten.

SCHIPLOFF's (1882) Quellungstheorie für den Kontraktionsvorgang übertrug 1910 MEIGS auf die Totenstarre: Durch postmortale Milchsäurebildung komme es zur Ionisierung der Eiweißkörper, die dadurch Quellungswasser aufnehmen sollten. Die transversale Quellung der Fibrillen sollte eine longitudinale Verkürzung zur Folge haben. v. FÜRTH (1911, 1919) schloß sich nach eigenen Versuchen dieser Theorie an. WINTERSTEIN (1921, 1923) führte die Anhäufung von Milchsäure auf Sauerstoffmangel zurück. Er betrachtete die Kontraktion als anaeroben, milchsäurebildenden Vorgang, die Erschlaffung als aeroben Milchsäureabbau. Seiner Ansicht

nach verhinderte O_2 -Überschuß den Eintritt der Starre bzw. unterbrach dieselbe sofort. Selbst ein bloßes Herausdiffundieren der Milchsäure über feuchte Papierstreifen sollte das Zustandekommen der Totenstarre verhindern. Die Lösung der Starre erklärte er durch Überquellung und Zerstörung der "contractilen Teilchen".

WACKER stellte 1916 eine Gegentheorie auf, die Kohlensäuretheorie. Auch er ging von der postmortalen Milchsäureanhäufung aus, die nach seiner Ansicht aus Bicarbonaten der Fibrillenelemente gasförmiges CO_2 freisetzte. Der Druck dieser Kohlensäure sollte eine Deformation der Fibrillen herbeiführen. Außerdem sollte der osmotische Druck, entstehend durch den Zerfall der großen Glycogen- in die kleinen Milchsäuremoleküle, zur Wirkung kommen.

Die bisher erwähnten Theorien spielen nur noch eine historische Rolle. Nachdem LUNDSGAARD 1929 als erster bei Halogenessigvergiftung, bei der keine Milchsäure entstehen kann, den Eintritt der Totenstarre beschrieben hatte, und auch ein alkalischer rigor mortis beobachtet wurde, (C. BERNARD 1877) war man gezwungen, nach neuen Ursachen für die Totenstarre zu suchen.

Die Arbeiten von EMBDEN, MEYERHOF und PARNAS über den Nucleotidstoffwechsel, sowie die Entdeckung des Adenosintriphosphats im Muskel führten über die modernen Kontraktionstheorien (ENGELHARDT und LJUBIMOVA 1939, SZENT-GYÖRGYI 1941/42 et al.) auch zu neuartigen Theorien über das Wesen des Rigor. ERDÖS fand 1943 bei seinen Untersuchungen zunehmenden Abbau des ATP

im Verlauf der Totenstarre. Dieses Ergebnis wurde von zahlreichen Autoren bestätigt (BATE-SMITH und BENDALL 1947/56, LAVES 1948, MARSH 1952, LAWRIE 1953, BENDALL und DAVEY 1957, HAMM 1956/57) und führte zu dem Schluß, daß die Weichmachereigenschaft des ATP auf der Fähigkeit beruht, Verbindungen zwischen Gruppen des Actins und des Myosins zu verhindern bzw. zu spalten. DÖRING, KORINTH und SCHMIDT (1962) stellten anhand umfangreicher Untersuchungen fest, daß der Phosphatstoffwechsel nach dem Tode dem im Leben ähnelt. Demnach verbraucht die postmortale, anaerobe Glycolyse reichlich ATP, das vorübergehend aus Phosphatspeichern (Kreatinphosphat, Lohmann'sche Reaktion) oder durch Disproportionierung von Adenosindiphosphat ($2 \text{ ATP} \longrightarrow 2 \text{ ADP} + 2 \text{ (P)}$); $2 \text{ ADP} \xrightarrow{\text{Myokinase}} \text{ATP} + \text{AMP}$; ENGELHARDT 1942) regeneriert werden kann. Sind diese Möglichkeiten erschöpft, und werden keine phosphatreichen Verbindungen durch die Atmungskette in den Mitochondrien wieder aufgebaut, dann sinkt der ATP-Spiegel. Unterschreitet die ATP-Konzentration einen bestimmten Wert (nach BENDALL 1951: 80 %; nach BATE-SMITH und BENDALL 1956: 60 % des Normalwertes der ATP-Konzentration im Muskel, die von BENDALL mit 0,435 mg ATP/g Muskel angegeben wird) so kommt es durch "Polymerisation" zur Bildung von Actomyosin, deren äußeres Zeichen die Totenstarre ist.

32. Verlauf der Totenstarre

Nach dem Eintritt des Todes lassen sich vier wesentliche Zeitabschnitte unterscheiden: In der ersten Phase ändern sich die mechanischen Eigenschaften des Muskels noch nicht. Der Abbau und die Regeneration von ATP halten sich die Waage. Diese Zeitspanne kann 1 bis 20 Stunden betragen (REICHEL 1960). Wird schließlich nach Erschöpfung der Phosphatspeicher die genannte ATP-Schwelle unterschritten, so setzt annähernd proportional zum weiteren ATP-Abbau (BATE-SMITH und BENDALL 1949) die zunehmende Versteifung der Muskeln ein. Während 2 - 3 Stunden sinkt nun die Dehnbarkeit des Muskels auf 5 - 10 % des Ausgangswertes (REICHEL). Diese Erscheinung wurde von BATE-SMITH und BENDALL als Maß für den Grad der Totenstarre eingeführt.

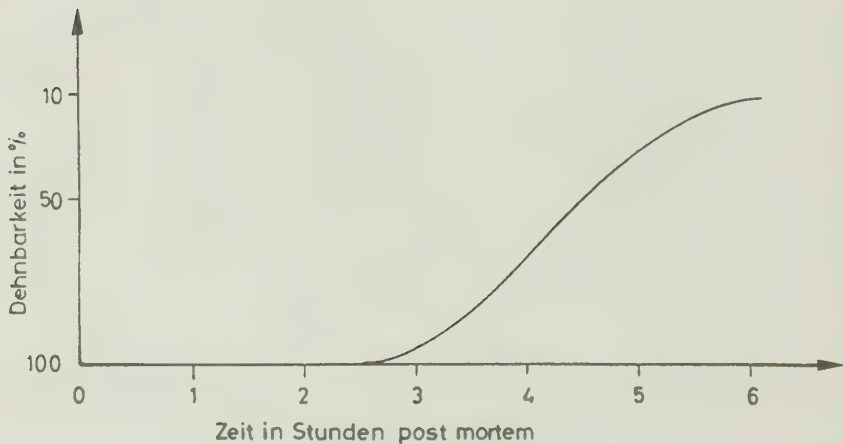


Abb. 8 Abnahme der Dehnbarkeit des Skelettmuskels nach dem Tode (BATE-SMITH und BENDALL 1956)

Nachdem der Rigor voll entwickelt ist, kann er über Stunden oder sogar Tage bestehen bleiben. Nach REICHEL (1960) löst er sich dann irreversibel durch fermentative myolytische Veränderungen der Fibrillen. Dies ist die in der neuen Literatur vorherrschende Auffassung. BATE-SMITH und BENDALL folgerten aus ihren Versuchen von 1956, daß eine Lösung der Totenstarre nur infolge mechanischer Beanspruchung oder bakterieller Zersetzung stattfindet. Eine genaue Klärung dieser Frage steht noch aus.

Durch verschiedene Faktoren ist die Geschwindigkeit des Erstarrungsvorganges beeinflußbar. Auf die Zeitspanne des Gleichgewichtes zwischen ATP-Abbau und Regeneration ("Erschlaffungsphase") wirkt der Vorrat an energiereichem Phosphat verlängernd. Daraus ist die Abhängigkeit vom Ernährungszustand und von der prä mortal geleisteten Arbeit erkennbar. Die Nysten'sche Reihe (1816) des Erstarrens der Muskeln findet so ihre Erklärung: Herz, Zwerchfell, Nacken, Kiefer, mimische Muskeln, Rumpf, Extremitäten. Beschleunigend wirkt auf den ATP-Abbau der Anstieg der ATPase-Aktivität bei zunehmender Muskelstarre (R. HAMM, 1956/57).

Erschlaffungs- sowie Erstarrungsphase lassen sich durch Erhöhung der Temperatur beschleunigen, und zwar mit einem Q_{10} von durchschnittlich 1,58 (d.h. bei Temperaturerhöhung um 10° steigt die Geschwindigkeit des Vorganges um den Faktor 1,58) (nach BATE-SMITH und BENDALL 1949/51).

Ebenfalls bei Temperatursteigerung beobachteten BATESMITH- und BENDALL 1948 Muskelverkürzungen bis zu 45 % bei jedoch minimaler Kraftentfaltung. Diese "Kontrakturen" treten bei normalem Übergang in den Rigor nicht auf (MEIXNER 1923), da auch bei Sehnendurchtrennung nur eines Antagonisten keine wesentlichen Haltungsänderungen an der Leiche zu beobachten sind (R. BECK 1968). Bei der kräftemäßigen Diskrepanz zwischen Öffnern und Schließern am Kiefergelenk müßten sonst z.B. alle Leichen mit geschlossenen Zahnreihen erstarren. PERRY (1956) stellte elektronenmikroskopisch die gleiche Struktur bei Totenstarre und kontrahierten Muskelfasern fest. Die Actomyosinbindung scheint beim Erstarren in anderer Position stattzufinden, als bei Kontraktion.

Experimenteller Teil

4. Grundlagen und Methodik der Messungen

In den Versuchen sollte der Einfluß von ATP-Lösungen verschiedener Konzentration auf den Muskel und die im Muskel ablaufende Totenstarre untersucht werden. Für solche Versuche erscheinen einzelne Muskelfasern besonders geeignet; im ganzen Muskel bereitet die Erzeugung definierter ATP-Konzentrationen wegen der langen Diffusionswege Schwierigkeiten. REICHEL gibt 1960 für Muskelfaserpräparate einen völligen ATP-Konzentrationsausgleich zur Umgebung nach einer halben Stunde an.

Die Aufstellung kontinuierlicher Kraft-Dehnungsdiagramme an Einzelmuskelfasern erfordert ein präzises Gleichmaß der Dehnbewegung sowie eine hohe Empfindlichkeit der Kraftmeßeinrichtung. Diese Forderungen wurden an die Versuchsanordnung gestellt.

4.1. Der Versuchsaufbau

In einem kastenförmigen Plexiglasrahmen wird horizontal ein Plexiglasbalken so angebracht, daß er um sein eines Ende in vertikaler Richtung schwenkbar ist. Das andere Ende ist gelenkig mit einem Läufer (Gewindebohrung) verbunden, der sich auf einer Gewindespindel auf und ab bewegen kann.

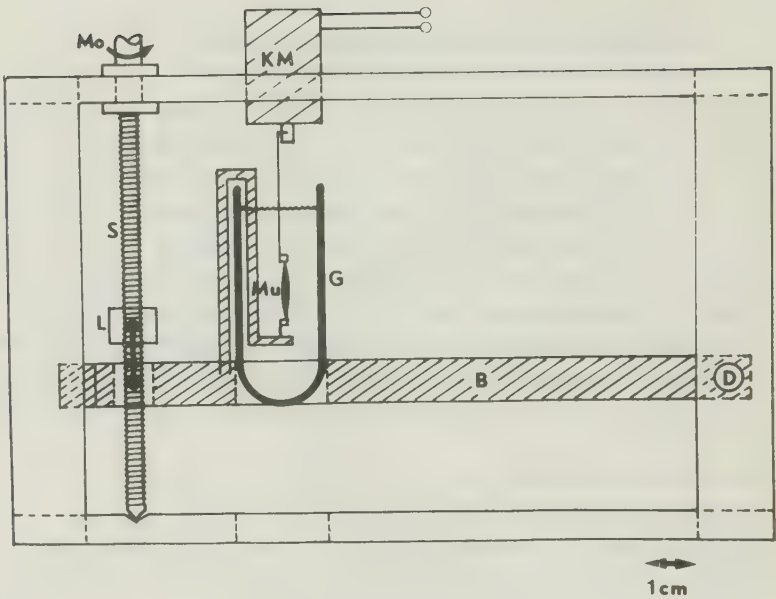


Abb. 9 Dehnungsapparatur (schematisch) mit Rahmen, Balken B, Drehachse D des Balkens, Spindel S, Läufer L, Glas G, Kraftmeßdose KM und Muskel Mu; M_o = Motor

Die Spindel (M 3-Gewinde, gewalzt, nachgeschnitten und poliert) ist oben und unten im Rahmen gelagert und wird über ein Getriebe und einen Teleskop-Kardan von einem Drehstrom-Synchronmotor angetrieben. Die Spindeldrehzahl beträgt 7,5 Upm und ist reibungs- und belastungsunabhängig. Bei laufendem Motor führt der Balken eine gleichmäßige strahlförmige Bewegung um die Achse D aus.

Auf dem Balken ist in der Nähe des Spindeltriebs die untere Einspannvorrichtung für die Muskelfasern so angebracht, daß sich von unten durch ein Loch in Rahmen und Balken ein Glasgefäß von der Gestalt eines verkürzten Reagenzglases über die Einspannstelle stülpen läßt (Abb. 9). Wird das Gefäß in dieser Position mit etwa 7 ml Flüssigkeit gefüllt, so taucht darin die zu untersuchende Muskelfaser; auch die untere sowie obere Spannklammer tauchen in die Flüssigkeit. Die obere Spannklammer hängt an einer Kraftmeßdose, die am oberen Rahmenteil befestigt ist. Die Klammern sind aus 0,3 mm starkem, rostfreiem Stahldraht gebogen, je ein Greifarm ist mit Weichplastik überzogen (Abb. 9). Diese Halteelemente zeigten eine minimale, traumatisierende Wirkung. Was daraus geschlossen werden kann, daß während der Versuche fünfmal Muskelfasern abrissen, die Rißstelle jedoch nie in der Nähe der eingespannten Enden lag.

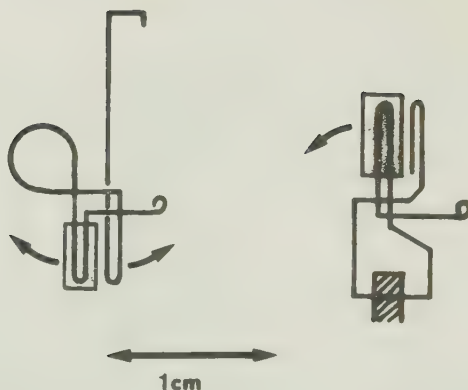


Abb. 10 obere und untere
Muskelspannklammer

Durch Veränderung der Polung des Elektromotors läßt sich der Drehsinn der Spindel wechseln. So kann der Abstand zwischen den beiden Spannklammern vergrößert oder verringert werden, und zwar mit einer Geschwindigkeit von $3,6 \cdot 10^{-2}$ mm/sec.

Der gesamte Dehnapparat ist von einem Plexiglaskasten umgeben, der mit wassergesättigtem, nachgereinigtem Stickstoff langsam durchströmt wird.

Zur Messung der Dehnkräfte, die im Versuch an den Einzelmuskelfasern auftreten, wird eine induktive Kraftmeßdose (Fa. Hottinger-Baldwin-Meßtechnik, Typ

Q 11/5) verwendet. Sie enthält zwei Präzisions-Magnetspulen und einen voll elastisch gelagerten Weicheisenkern. Wird dieser durch geringe Krafteinwirkung aus seiner Ruhelage ausgelenkt, so steigt der induktive Widerstand der einen Spule, während der der anderen sinkt. Beide Spulen sind mit zwei Festwiderständen zu einer Wheatstone'schen Halbbrücke zusammengeschlossen, in der die Widerstandsänderung als der Dehnkraft proportionale Spannungsdifferenz auftritt.

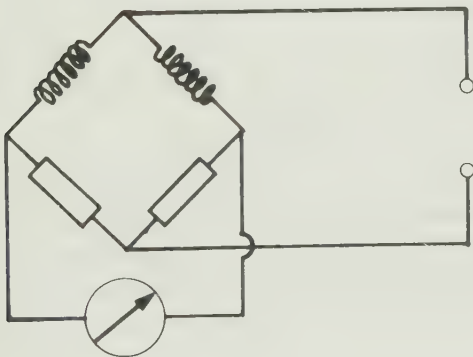


Abb. 11 Schaltbild einer Wheatstone'schen
Halbbrücke.

Diese Spannung wird über einen Vorverstärker einem Kompensationsschreiber der Fa. Moseley zugeleitet, der sie im Diagramm auf DIN A 3-Bögen aufträgt.

Dabei ist die Durchlaufgeschwindigkeit des Schreibers auf der Abszisse konstant und somit der Dehnung proportional.

In anderen Versuchen wird als Registriergerät ein Philips-Kompensograph verwendet, der eine höhere Empfindlichkeit und einen fortlaufenden Papiertransport über Rollen besitzt. So ist es möglich, den Vollausschlag des Schreibers bei 400 mp und eine Ansprechempfindlichkeit von 1 mp zu erzielen. Dadurch wird das Muskelmaterial im Versuch möglichst geschont.

42. Der Versuchsgang

421. Manuell gesteuerte Versuche

Im manuell gesteuerten Versuch wurden die Muskelfasern bis zu einem konstanten Belastungsmaximum (etwa $1/4$ der Reißfestigkeit) gedehnt und anschließend sofort entdehnt. Zwischen den Dehnungen wurden Zeitintervalle zwischen $1/2$ und 24 Std. eingeschoben.

422. Automatisch gesteuerte Versuche

Im automatisch gesteuerten Versuch wurde von definierten Ausgangslängen (l_0 = Länge der Faser bei einer geringen, wählbaren Schwellenkraft K_0) um konstante Wegstrecken gedehnt. Lief der Motor aus seiner Ruhestellung an, so richtete sich die senkrecht hängende Muskelfaser zunächst aus einer lose hängenden Lage

gerade (Anlaufzeit). Das Registriergerät betätigte mit dem Anzeigen der ersten deutlichen Krafteinwirkung (Schwellenkraft K_0) gleichzeitig einen Schalter, der im Schaltzentrum einen Zeitschalter zum Laufen brachte. Nach 10 Sekunden schaltete der Zeitschalter den Dehnungsmotor ab. Nun war der Muskel um 0,36 mm über seine Ruhelänge l_0 hinaus gedehnt. Ein zweiter Zeitschalter bewirkte ein Verharren von 10 Sekunden in dieser Position. Anschließend fand die Entdehnung bis zur Ruhestellung des Motors statt, bei deren Erreichen eine dritte Schaltuhr in Gang gesetzt wurde. Sie begrenzte die anschließende Pause so, daß der gesamte Zyklus eine Dauer von annähernd 30 Minuten erhielt.

4231. Die Versuchsmaterialien

Die Versuchsfasern wurden aus Muskelfaserbündeln von etwa 15 mm Länge und 2-3 mm Dicke gewonnen, die bei Operationen (Laparatomien, Nierenoperationen, Operationen der Extremitäten) aus der Skelettmuskulatur entnommen wurden. Für sämtliche Versuche wurden nur Einzelmuskelfasern verwendet, die aus dem frischen Muskelmaterial herauspräpariert wurden. Dabei wurde darauf geachtet, daß sie keine Beschädigung durch Verletzung, Überdehnung oder Austrocknung davontrugen. Dazu wurde die Präparation in physiologischer Tyrode-Lösung mit feinen Sonden stumpf durchgeführt, und die Faser während des Befestigens an den Spannklemmern in einem Tropfen derselben Lösung gehalten. Die sorgfältige Präparation war erforderlich, da bei

Verletzung des Sarkolemmas nicht nur eine Veränderung der mechanischen Eigenschaften, sondern auch der Austritt von Myosin in die umgebende Lösung und somit die fermentative Zersetzung des Adenosintriphosphates zu befürchten wäre.

Wegen der Schwierigkeiten, die bei der Präparation auftraten, (starker Zusammenhalt der Fasern untereinander, ständige Kontraktionen durch Reizung), konnten nur relativ starke Muskelfasern isoliert werden (Durchmesser ca. 100 μ ; Querschnitt ca. 0,008 mm²). Bei dünneren Fasern ließ sich eine Beschädigung während des Präparationsvorganges nicht mit Sicherheit ausschließen. Die Zugabe des ATP erfolgte bei einigen Versuchen ohne Zutritt von Luft-Sauerstoff mit Hilfe einer Injektionsspritze deren Kanüle durch eine feine Bohrung in den Stickstoffkasten eingeführt wurde. Das ATP wurde als Dinatriumsalz mit drei Molekülen Kristallwasser zugegeben. Es handelt sich um das Präparat NAAH 15028 der Firma Boehringer in Mannheim. Das durch die Kristallform erhöhte Molekulargewicht des ATP-Salzes (M = 605) wurde bei der Herstellung der Lösungen berücksichtigt.

5. Ergebnisse der Dehnungsversuche

51. Dehnung bis zu konstanten Belastungsmaxima

Hierbei entstanden für Muskelfasern vor und nach dem Übergang in die Totenstarre folgende deutlich unterscheidbare Diagramme:

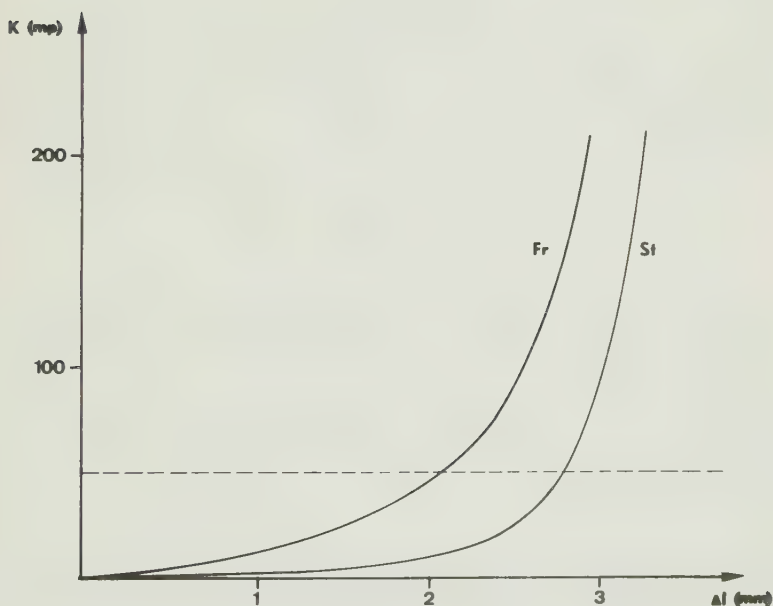


Abb. 12

Charakteristisches Kraft-Dehnungsdiagramm einer Muskelfaser (Vers. 6) im frischen (fr) und totenstarren (st) Zustand.

Ordinate: Kraft in mp ; (proportional zur Spannung)

Abszisse: Dehnung in mm (proportional zur relativen Dehnung)

Beide Kurventypen sind monoton steigend; die zum frischen Muskel gehörige Kurve weist im Vergleich zur totenstarren eine gleichmäßigere Krümmung im untersuchten Bereich auf. Die totenstarre Muskelfaser setzt der Dehnung erst nach längerer Vordehnung eine Kraft entgegen, die dann rasch zunimmt; die zugehörige Kurve nimmt einen steileren Verlauf als die des frischen Muskels.

Zur Auswertung der einzelnen Versuche wird die Steilheit der beschriebenen Kurven bei einer Vorspannung von 50 mp ermittelt. Sie ist dem E-Modul der Muskelfaser in diesem Bereich proportional. Zur Berechnung des E-Moduls werden in die Formel

$$E = \frac{p}{q} \cdot \frac{l_0}{\Delta l}$$

die bekannten Größen l_0 und q eingesetzt, ebenso die Größen p und Δl die sich aus den Versuchsdiagrammen entnehmen lassen.

Werden die ermittelten Werte graphisch über der Zeit aufgetragen, so läßt sich daraus der Verlauf der Versteifung erkennen.

Zu jedem Versuch werden außerdem die Temperatur, die Einspannlänge der Muskelfaser zu Anfang und Ende der Untersuchungen, sowie Alter und Geschlecht der Personen von denen die Muskelfasern entnommen wurden und der Ort der Entnahme angegeben. Der Zeitpunkt eines ATP-Zusatzes ist im Diagramm durch einen Pfeil gekennzeichnet, die ATP-Konzentration ist angegeben.

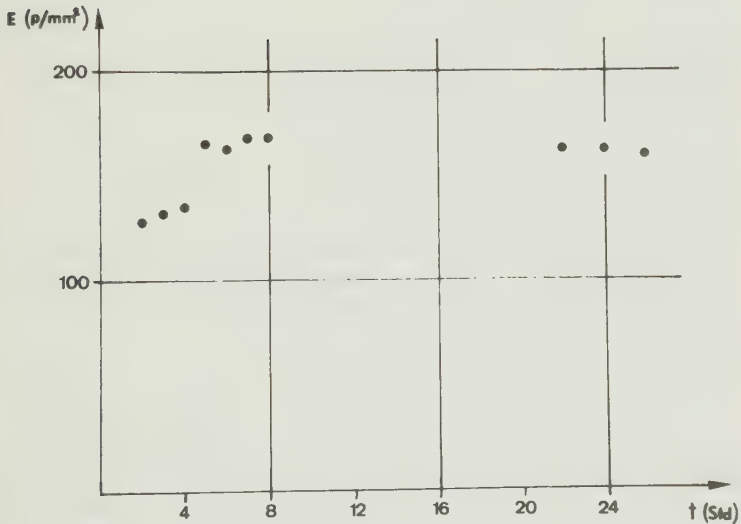
Versuch 1

findet in ATP-freier Lösung statt.

Daten der verwendeten Muskelfaser:

Präparat aus dem m. rectus abdominis eines
60-jährigen Mannes.

Einspannlänge: 12 mm vor, 15 mm nach dem
Versuch, Temperatur: 22° C



Nach 4 Stunden deutliches Ansteigen des E-Moduls.
Nach 30 Stunden wurden die Kurven wieder flacher,
d.h. der E-Modul sinkt.

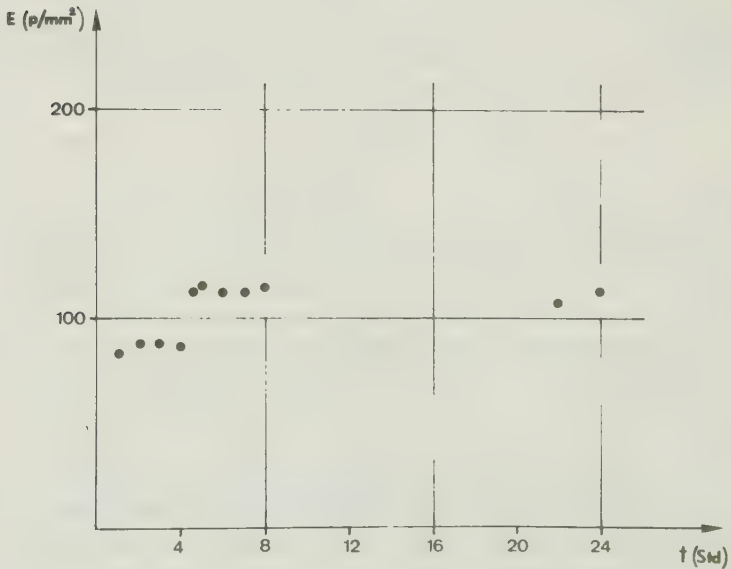
Versuch 2

findet in ATP-freier Tyrode-Lösung statt.

Daten der verwendeten Muskelfaser:

Präparat aus dem m. rectus abdominis eines
53-jährigen Mannes.

Einspannlänge: 5 mm vor, 7 mm nach dem Ver-
such, Temperatur: 23° C



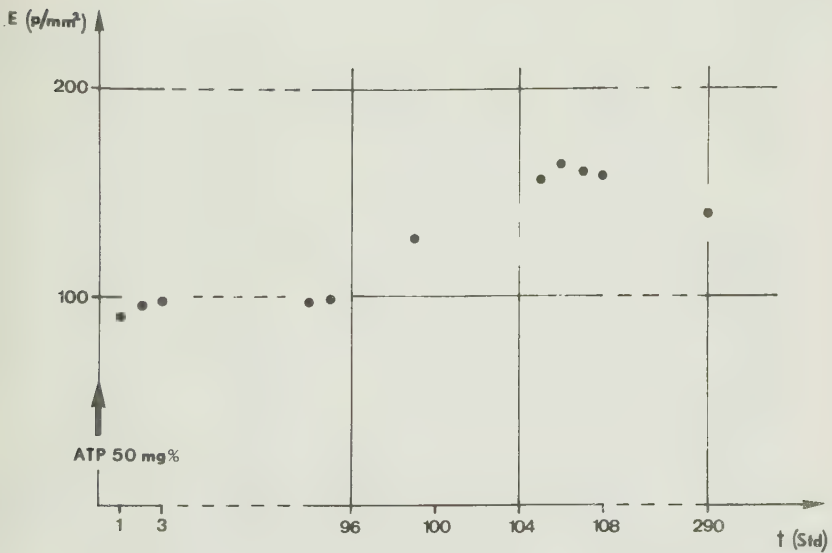
Nach 4 Stunden Anstieg des E-Moduls; der Versuch wurde nach 100 Stunden beendet; es wurde keine Erweichung beobachtet.

Versuch 3

Während der gesamten Versuchszeit enthält die Tyrode-
Lösung 50 mg % ATP.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem
m. latissimus dorsi einer 56-jährigen Frau.

Einspannlänge: 6 mm vor, 9 mm nach dem Versuch
Temperatur: 18° C



Allmähliche Verfestigung zwischen der 95. und 105.
Stunde. Nach 12 Tagen Erweichung und Abriß der Faser.

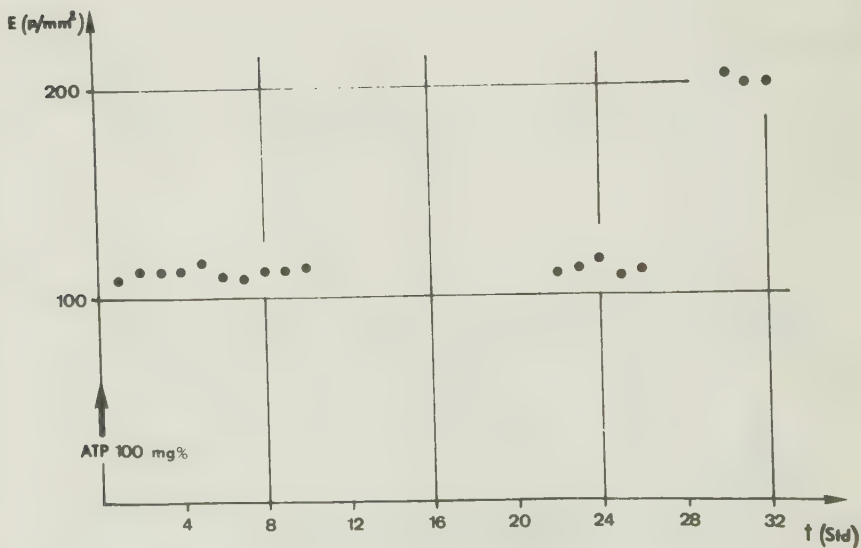
Versuch 4

Während der gesamten Versuchszeit enthält die Tyrode-Lösung 100 mg % ATP

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. rectus abdominis einer 63-jährigen Frau.

Einspannlänge: 10 mm vor, 14 mm nach dem Versuch

Temperatur: 26° C



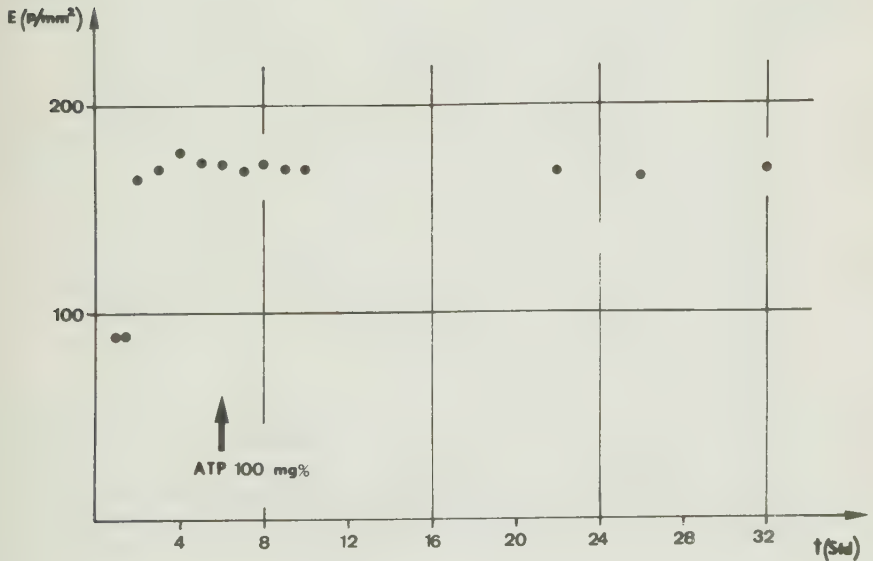
Anstieg des E-Moduls zwischen 26. und 30. Stunde.
Nach 3 Tagen allmähliche Erweichung.

Versuch 5

Nach Eintritt der Totenstarre werden der Tyrode-Lösung
100 mg% ATP zugesetzt.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m.
gastrocnemius eines 20-jährigen Mannes.

Einspannlänge: 9 mm vor, 12 mm nach dem Versuch
Temperatur: 24° C



Der Versuch wurde nach 32 Stunden abgebrochen;
keine Wiedererweichung der Faser.

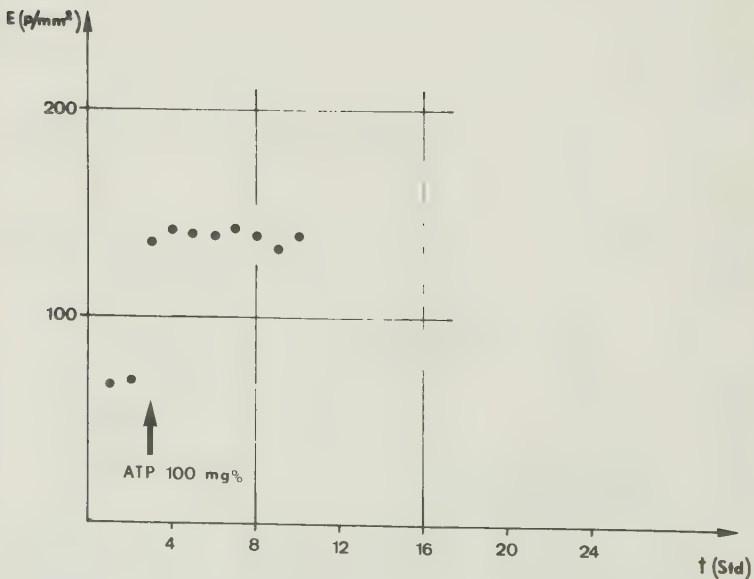
Versuch 6

Bei Eintritt der Totenstarre werden der Tyrode-Lösung 100 mg % ATP zugesetzt.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus den mm. intercostales einer 45-jährigen Frau

Einspannlänge: 8 mm vor, 11 mm nach dem Versuch

Temperatur: 24 ° C



Der Versuch wurde nach 10 Stunden beendet;
keine Wiedererweichung der Faser.

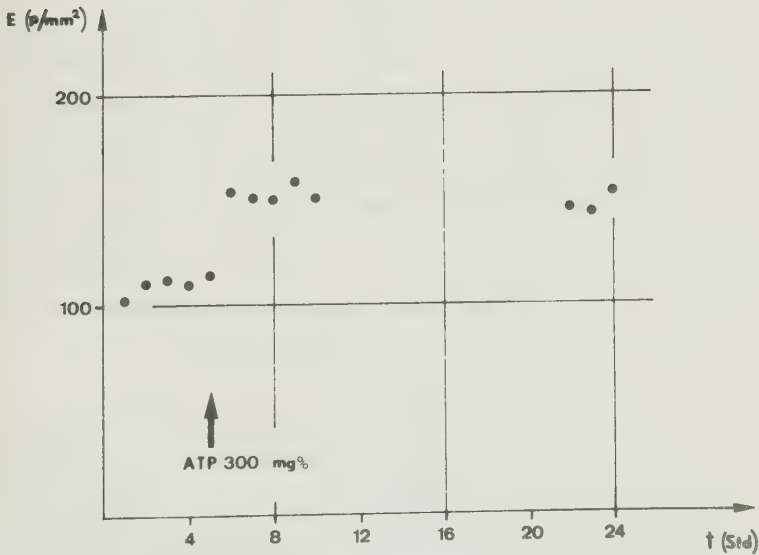
Versuch 7

Kurz vor dem vermuteten Eintritt der Totenstarre werden der Tyrode-Lösung 300 mg % ATP zugesetzt.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. rectus abdominis einer 30-jährigen Frau

Einspannlänge: 10 mm vor, 12 mm nach dem Versuch

Temperatur: 22° C



Der E-Modul stieg nach 5 Stunden an. Versuch nach 24 Stunden beendet; keine Wiedererweichung der Faser zu beobachten.

52. Dehnung um konstante Wegstrecken

Hierbei entstehen Diagramme, in denen die einzelnen Phasen des Dehnversuches gut sichtbar sind (Abb. 19).

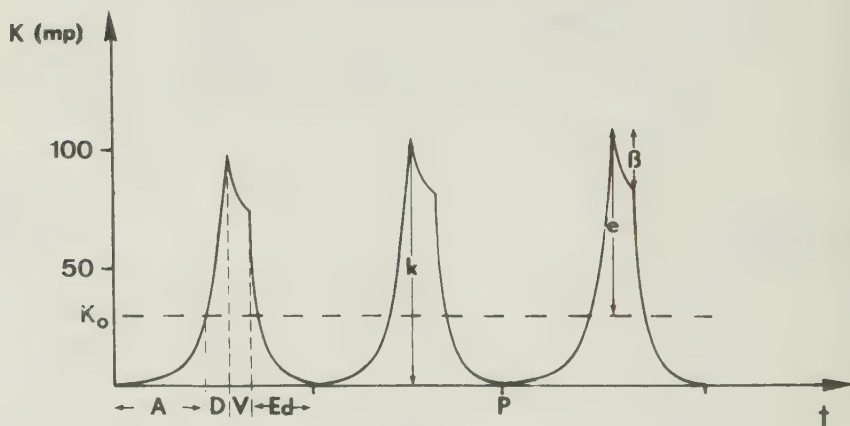


Abb. 13

Diagramm der periodischen Dehnung und Entdehnung einer Muskelfaser

- A = Anlaufzeit
- D = Dehnung (10 sec.)
- V = Verharren (10 sec.)
- Ed = Entdehnung
- K = Kraft nach Beendigung der Dehnung
- e = zur Bestimmung des E-Moduls verwendete Größe
- β = Maß für plastischen Anteil

Aus diesen Diagrammen werden 4 Größen ausgewertet.

Aus der Änderung der Anlaufzeit A läßt sich die Änderung der Ausgangslänge l_0 bestimmen, die absolut und prozentual angegeben wird. Zu Versuchsbeginn beträgt die Einspannlänge immer 8 mm.

Aus der Kraft (e), die nach dem Überschreiten der Schwellenkraft K_0 durch eine weitere Dehnung um 0,36 mm hervorgerufen wird, läßt sich bei bekannter Einspannlänge und annähernd konstantem Faserquerschnitt der E-Modul für den untersuchten Dehnungsbereich errechnen. Außerdem wird für jeden Dehnversuch die höchste auftretende Kraft (K) bestimmt.

Der Abfall der Kraft während der Periode des Verharrens (10 sec.) wird in Prozent der Gesamtkraft (K) angegeben; er ist Ausdruck für das plastische "Fließen" der Muskelfasern. Versuche von R. BECK (1968) haben ergeben, daß durch Plastizität die Kraft K eines gedehnten Muskels mit dem Logarithmus der Versuchsdauer (t) abnimmt. Das gleiche Verhalten beschreibt P. ZINK (1965) an menschlicher Leichenhaut mit Hilfe der Formel

$$K = - B \cdot \ln \frac{t}{t_0}$$

Dabei ist B ein Maß für die Größe des Kraftabfalls bzw. das Fließen. t_0 ist die Zeit, nach der die Kraft theoretisch den Wert 0 erreichen würde. Der Beobachtungszeitraum für das Fließen betrug nur 10 sec. Ein logarithmischer Verlauf des Kraftabfalls konnte in dieser kurzen Zeitspanne nicht bewiesen werden. Die Größe B wurde mit Hilfe der Höhe des Abfalles bestimmt.

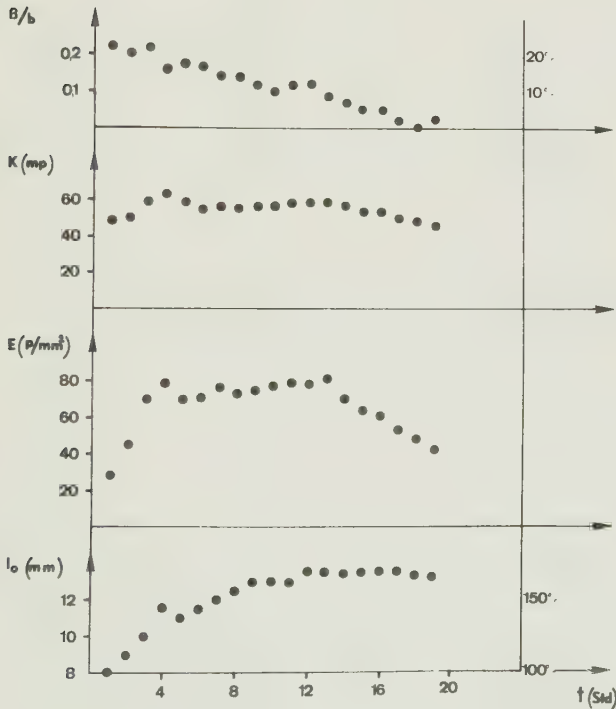
Zur Beschreibung der plastischen Eigenschaften ist der Quotient B/K geeignet, er ist numerisch identisch mit dem Abfall der Kraft während der Periode des Verharrrens in Relation zur Gesamtkraft. Die beschriebenen Größen werden aus den Diagrammen entnommen und graphisch über der Zeit als Abszisse dargestellt. Es lassen sich so Änderungen im mechanischen Verhalten der Einzelfasern laufend gut verfolgen.

Versuch 8

findet in ATP-freier Tyrode-Lösung statt.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. rectus abdominis einer 36-jährigen Frau

Vorspannung: $K_0 = 35$ mp; Temperatur: 26°C



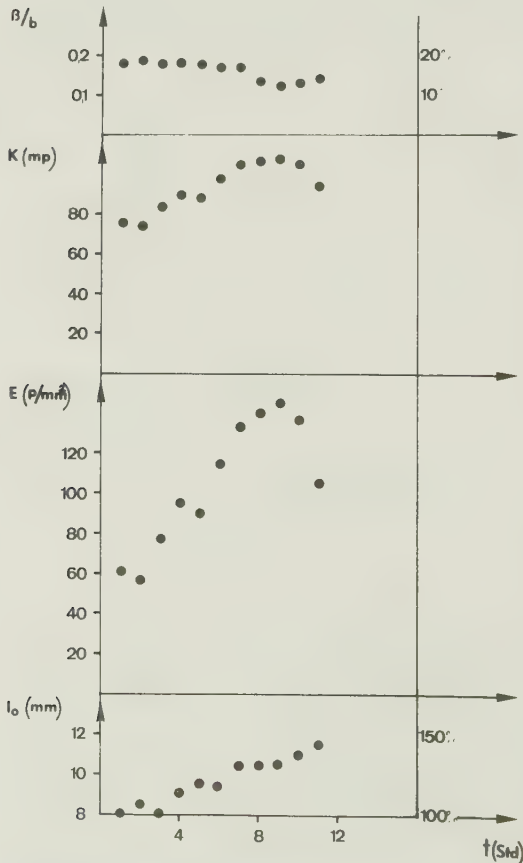
Anstieg von E und K zwischen 2. und 4. Stunde. Absinken von E und K nach 14 Stunden, l_0 steigt, die Fließgröße B/K sinkt.

Versuch 9

findet in ATP-freier Tyrode-Lösung statt:

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. rectus abdominis eines 23-jährigen Mannes

Vorspannung: $K_0 = 50$ mp; Temperatur: 24°C



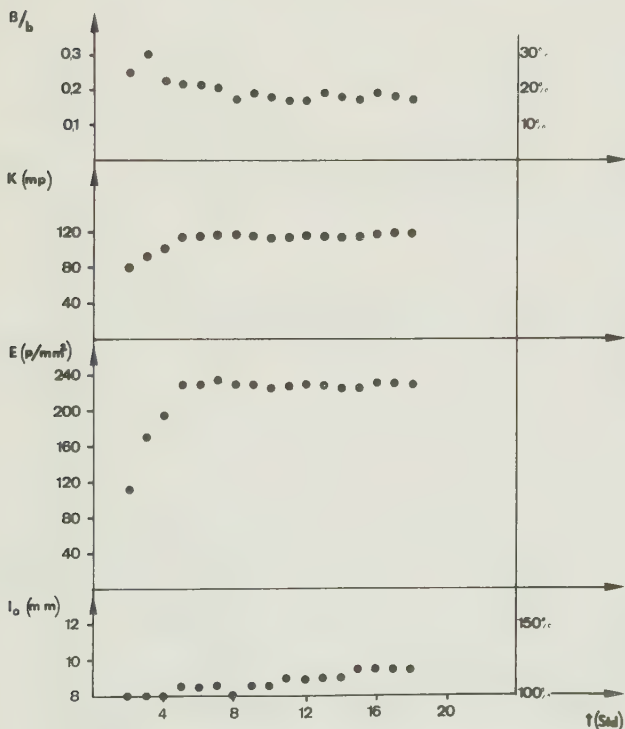
Anstieg von E und K zwischen der 3. und 8. Stunde. Absinken von E und K nach 9 Stunden. l_0 steigt, β/K sinkt anfangs, steigt nach 9 Stunden wieder. Abriß nach 11 Stunden.

Versuch 10

findet in ATP-freier Tyrode-Lösung statt.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. latissimus dorsi eines 28-jährigen Mannes

Vorspannung: $K_0 = 30$ mp; Temperatur: 26°C



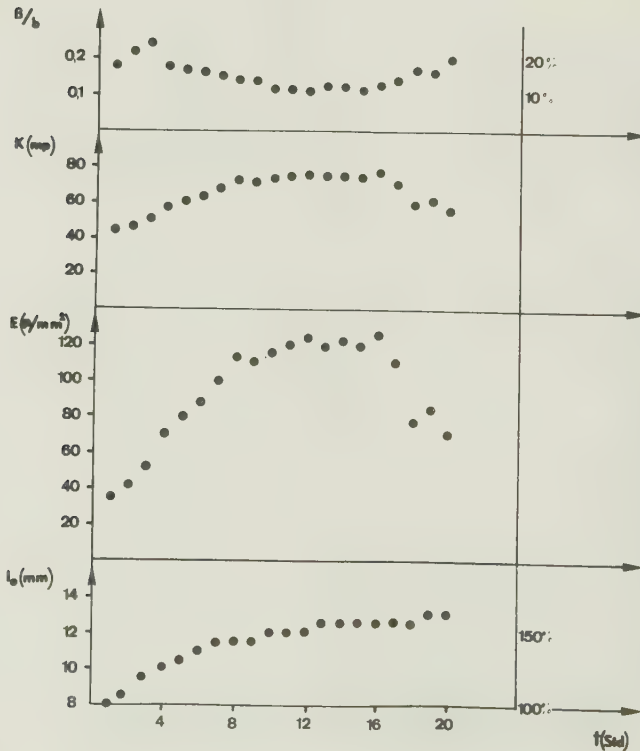
Anstieg von E und K zwischen 2. und 5. Stunde. E und K sinken bis zur 18. Stunde nicht mehr ab; der Anstieg von l_0 und die Abnahme von B/K sind gering.

Versuch 11

findet in ATP-freier Tyrode-Lösung statt.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem
m. rectus abdominis eines 68-jährigen Mannes

Vorspannung: $K_0 = 30$ mp; Temperatur: 20°C



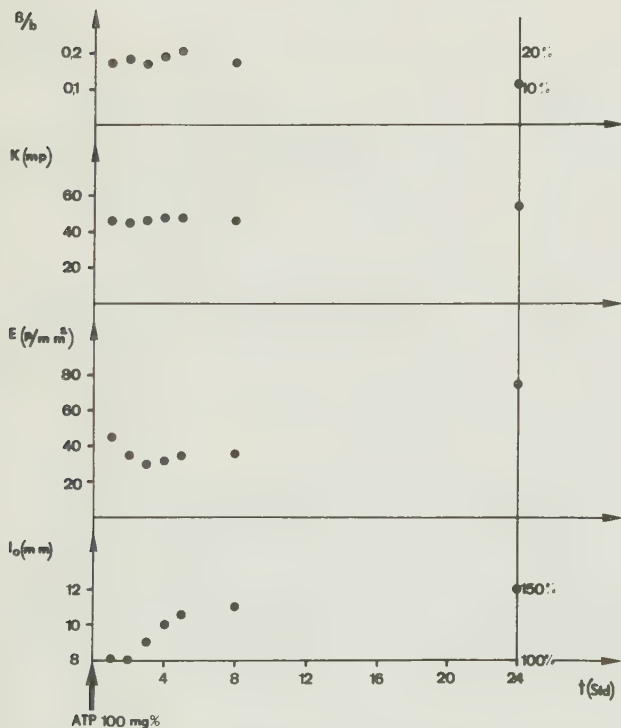
Anstieg von E und K zwischen 2. und 8. Stunde, Absinken von E und K nach 16 Stunden, l_0 steigt, B/K sinkt zunächst, steigt nach 16 Stunden wieder an. Abriß nach 20 Stunden.

Versuch 12

Während der gesamten Versuchszeit enthält die Tyrode-Lösung 100 mg % ATP

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. rectus abdominis eines 35-jährigen Mannes

Vorspannung: $K_0 = 35$ mp; Temperatur: 22°C



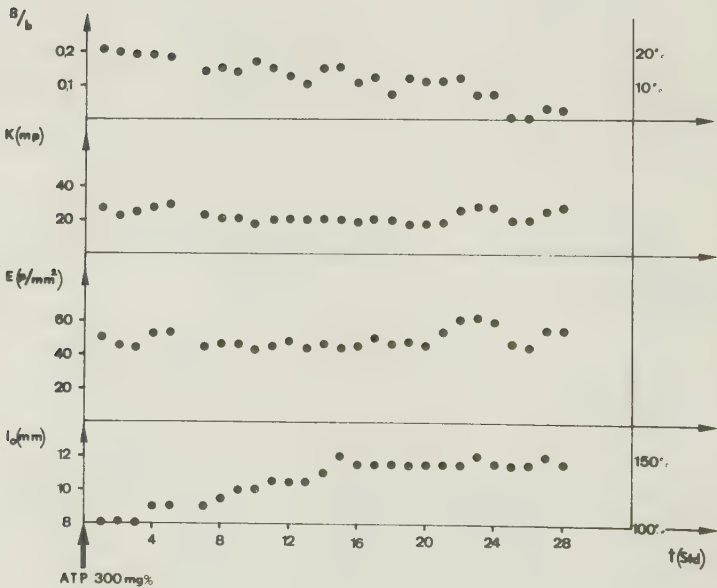
Anstieg von E und K nach 24 Stunden festgestellt.
 l_0 steigt bis zur 8. Stunde; B/K sinkt zwischen
8. und 24. Stunde geringfügig.

Versuch 13

Während der gesamten Versuchszeit enthält die Tyrode-
Lösung 300 mg % ATP

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem
m.rectus abdominis eines 63-jährigen Mannes

Vorspannung: $K_0 = 10 \text{ mp}$; Temperatur: 25° C



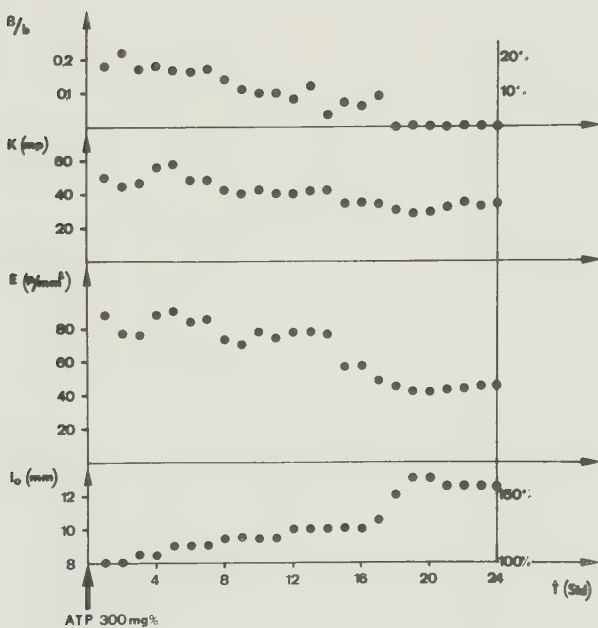
Keine deutliche Änderung von E und K, l_0 steigt,
 B/K fällt ab.

Versuch 14

Während der gesamten Versuchszeit enthält die Tyrode-
Lösung 300 mg % ATP

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m.
sartorius eines 17-jährigen Mannes

Vorspannung: $K_0 = 15$ mp; Temperatur: 31°C



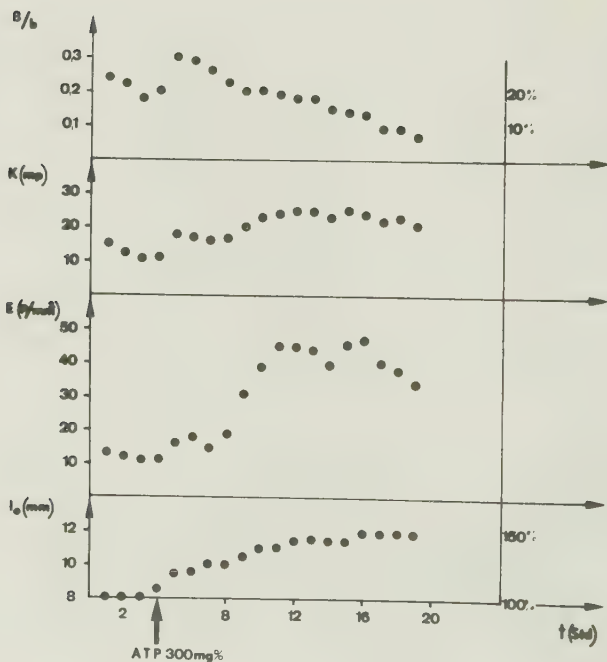
Kein deutlicher Anstieg von E und K , Absinken von
 E und K nach 14 Stunden, l_0 steigt, B/K sinkt.

Versuch 15

Kurz vor dem vermuteten Eintritt der Totenstarre werden der Tyrode-Lösung 300 mg% ATP zugesetzt.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. rectus abdominis eines 42-jährigen Mannes

Vorspannung: $K_0 = 10 \text{ mp}$; Temperatur: 26° C



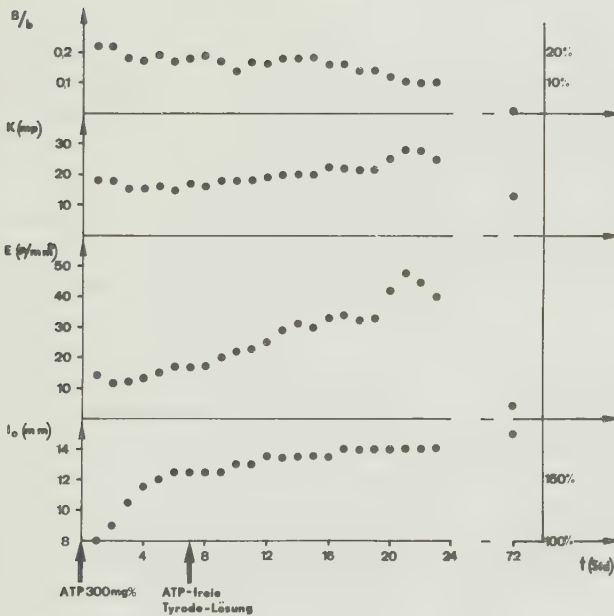
Anstieg von E und K zwischen der 5. und 11. Stunde.
Absinken von E und K nach 16 Stunden, l_0 steigt,
 B/K sinkt.

Versuch 16

Zunächst enthält die Tyrode-Lösung 300 mg % ATP; nach 7 Stunden wird sie gegen ATP-freie Lösung ausgetauscht.

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. rectus abdominis einer 63-jährigen Frau

Vorspannung: $K_0 = 10$ mp; Temperatur: 23°C



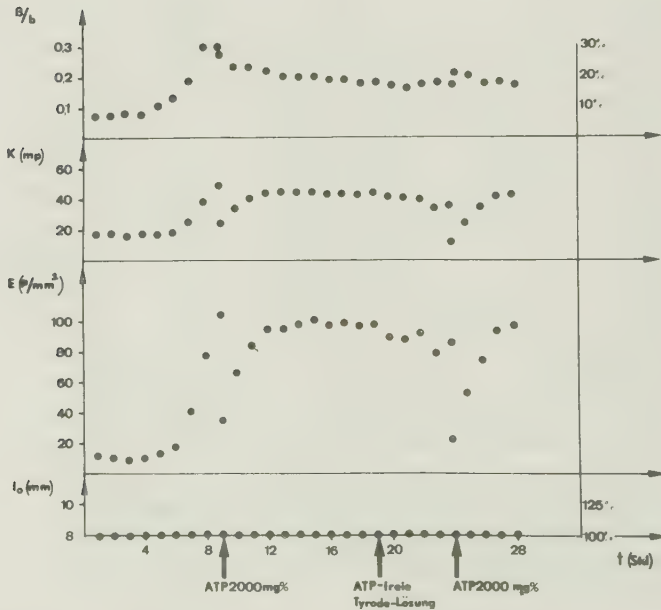
Kein Anstieg von E und K bis zur 8. Stunde; zwischen 8. und 20. Stunde allmählicher Anstieg von E und K , l_0 steigt, S/K sinkt.

Versuch 17

Der Tyrode-Lösung werden nach 9 Stunden 2000 mg % ATP zugesetzt; nach 19 Stunden wird sie gegen ATP-freie Lösung ausgetauscht, der nach 24 Stunden wieder 2000 mg % ATP zugesetzt werden

Daten der verwendeten Muskelfaser: Präparat aus dem m. rectus abdominis eines 47-jährigen Mannes

Vorspannung: $K_0 = 15 \text{ mp}$; Temperatur: 26° C



Anstieg von E und K zwischen der 6. und 9. Stunde. Schlagartiges Absinken von E und K nach jedem Zusatz von ATP 2000 mg %, l_0 bleibt konstant.

6. Diskussion der Ergebnisse

61. Versuche in ATP-freier Tyrode-Lösung

Diese Versuchsreihen hatten zum Ziel, die Einwirkung der Totenstarre auf die Spannungs-Dehnungs-Diagramme von Muskelfasern zu prüfen. Beim Übergang in die Totenstarre an den Muskelfasern auftretende Änderungen der mechanischen Eigenschaften sind mit Hilfe der beschriebenen Meßapparatur deutlich zu erkennen.

Als besonders geeignet zur Beschreibung des Erstarungsvorganges erweisen sich E-Modul und Gesamtkraft. Der E-Modul ist ein Maß für die "Steifheit" des Muskels. Die noch nicht totenstarren Fasern zu Beginn der Versuche sind weich (wenig steif), ihr E-Modul ist niedrig. Bei Eintritt der Totenstarre werden die Fasern deutlich steifer, wie auch makroskopisch an Leichen beobachtet wird, was einem Ansteigen des E-Moduls im Experiment entspricht.

Bei den handgesteuerten Versuchen (Versuch 1 und 2) traten Steigerungen des E-Moduls um etwa 30 % auf, bei den automatisch gesteuerten Versuchen 8, 9, 10 und 11 Steigerungen des E-Moduls zwischen 100 und 200 %. Die Zeitspanne der Erstarrung begann bei den Versuchen 1 und 2 nach vier Stunden, bei den Versuchen 8, 9, 10 und 11 zwischen 2 und 8 Stunden.

Ein allmählicher Übergang in den Zustand der Totenstarre war bei den Versuchen 8, 9, 10 und 11 über einen Zeitraum von bis zu 6 Stunden gut zu beobach-

ten, während die Muskeln aus den Versuchen 1 und 2 in einer Zeitspanne von 15 Minuten von einem Versuch zum nächsten einen sprunghaften Anstieg des E-Moduls zeigten. In den handgesteuerten Versuchen wurden die Muskelfasern mit höheren Kräften belastet (etwa 250 mp entspricht ca. $1/4$ der zum Zerreißen erforderlichen Kraft) als bei den automatischen. Es ist bekannt, daß durch starke Belastung der Ablauf der Totenstarre abgekürzt werden kann (sog. Brechen der Totenstarre). Möglicherweise sind auch die geringere Steigerung des E-Moduls und ihr sprunghaftes Auftreten auf die starke Muskelfaserbelastung zurückzuführen.

Im Versuch 1 tritt eine Lösung der Totenstarre nach 26 Stunden auf, im Versuch 2 kann diese Erscheinung bis zu 100 Stunden nach Versuchsbeginn nicht beobachtet werden. Die rasche Lösung der Starre in den automatisch gesteuerten Versuchen 8, 9 und 11 (nach 10-16 Stunden) ist möglicherweise auf den ständigen Lastwechsel im halbstündigen Intervall zurückzuführen.

Eine Verlaufsbeobachtung der l_0 war nur bei den automatischen Versuchen möglich. Es zeigte sich bei allen Versuchen (8, 9, 10 und 11) eine Zunahme der Muskelruhelänge. Das Ausmaß der Zunahme schwankte zwischen 20 und 70 %. Gleichzeitig sank der plastische Anteil der Kraft, d.h. die Fließgröße. Es fand sich jedoch nur ein stochastischer Zusammenhang zwischen der Abnahme der plastischen Nachwirkungen und der Vergrößerung der Ausgangslänge. Die Versuche 9 und 11 führten zum Abreißen der untersuchten Muskelfasern. In beiden Versuchen konnte 2 - 4 Stunden vor Abriß der

Faser eine Zunahme der Fließgröße festgestellt werden. In den Versuchen 10, 11, 12, 14, 15 und 17 fanden sich während der ersten 2, 3, 5 bzw. 7 Stunden deutliche Steigerungen der Fließgröße B/b . Erst danach wurde ein stetiges Absinken dieses Wertes, wie in den anderen Versuchen, beobachtet.

62. Versuche in ATP-haltiger Tyrode-Lösung

BATE-SMITH und BENDALL gaben 1956 einen Normalwert für Muskel-ATP von 0,435 mg/g Muskel an. Sie beschrieben den Eintritt der Totenstarre bei einem Absinken des ATP-Spiegels auf 60 % dieses Normalwertes.

Werden die Versuche in einer Tyrode-Lösung durchgeführt, die zu Versuchsbeginn eine ATP-Konzentration von 50-100 mg% besitzt, so bleibt die Erstarrung der Muskelfaser zunächst aus. Die Totenstarre kann jedoch auch bei solchen Versuchen eintreten, der Zeitpunkt des Anstiegs des E-Moduls lag hier jedoch wesentlich später etwa bei 24-100 Stunden. (Versuche 3, 4 und 12). Als Erklärung für dieses Phänomen kann möglicherweise ein spontaner oder durch Muskel-ATPase beschleunigter ATP-Zerfall in der Tyrode-Lösung herangezogen werden. Beispielsweise gibt BERGMAYER die Haltbarkeit von ATP-Lösungen im neutralen Bereich bei 0° C mit einer Woche an.

Wird der Versuch in einer Tyrode-Lösung mit einer Anfangskonzentration von 300 mg% ATP durchgeführt, so wird der Eintritt der Totenstarre verhindert; die mechanischen Eigenschaften der Faser bleiben unverändert

bis zur Erweichung des Muskels (Versuch 14). Möglicherweise wäre eine Erstarrung zu einem späteren Zeitpunkt noch erfolgt, wenn ihr nicht die Zersetzung der Muskelfaser zugekommen wäre.

Durch einen Zusatz von 100 - 300 mg% ATP nach (Versuch 5), während (Versuch 6) oder kurz vor (Versuch 7 und 15) Eintritt der Totenstarre läßt sich die Verhärtung der Muskelfasern nicht verhindern oder rückgängig machen.

MARSH berichtete 1952 über Versuche mit Muskeln in hohen ATP-Konzentrationen (über 3×10^{-2} Mol/l entspricht etwa 1500 mg%). In Versuch 17 wird eine Muskelfaser in ATP-freier Tyrode-Lösung Dehnungsversuchen unterzogen. Nach 5 Stunden beginnt der E-Modul zu steigen. Nach 9 Stunden steigt die Härte der Faser nicht mehr weiter an. Nun erhält die Tyrode-Lösung einen Zusatz von 2000 mg% ATP. Daraufhin fällt der E-Modul innerhalb von 5 Minuten auf ein Drittel des Wertes der totenstarren Faser. Beim nächsten Versuch, der nach einer halben Stunde durchgeführt wurde, ist bereits die einsetzende Wiedererstarrung erkennbar. 2 Stunden nach dem ATP-Zusatz hat der Muskel die volle Starre wieder erreicht. Während der nächsten Stunden bleibt er im Zustand der Totenstarre. Nach 19 Stunden wird die ATP-haltige Lösung gegen eine frische Tyrode-Lösung ausgetauscht. Es ergibt sich eine geringfügige Änderung des E-Moduls, die durch eine Änderung des Hydratationszustandes der Muskelfaser infolge veränderten osmotischen Druckes der Umgebung bedingt sein kann (BUCHTHAL, KAISER 1951). Der ATP-freien Lösung werden in der 24. Versuchsstunde wieder 2000 mg% ATP

zugegeben, worauf eine gleichartige Erweichung erfolgt, wie bei der ersten ATP-Zugabe in der 9. Stunde. Auch diesmal findet der auffallend rasche Wiederanstieg des E-Moduls statt. Vergleichsweise erfolgt bei Zusatz von ATP in geringeren Konzentrationen nur eine sehr langsame Wiedererstarrung: In den Versuchen 3 und 4 wird ein allmählicher 5-10 Stunden dauernder Übergang in die Totenstarre an Muskelfasern beobachtet, die in Lösungen mit einem anfänglichen ATP-Gehalt von 50-100 mg % aufbewahrt werden.

Um an sarkoplasmafreien Myofibrillen (extrahierter Muskel), denen der Marsh-Bendall-Hemmfaktor für die ATPase-Wirkung fehlt, eine Kontraktion zu erzielen, ist eine Konzentration von mindestens $3 \cdot 10^{-2}$ Mol/l entsprechend 1530 mg % ATP (MARSH 1952) erforderlich. Frische Muskelfasern kontrahieren sich nach MARSH bereits bei ATP-Konzentrationen von 76 mg %. MARSH stellte fest, daß im frischen Muskel die ATPase-Aktivität geringer ist als im extrahierten. Er führt die geringere ATPase-Aktivität auf eine Hemmung des Fermentes zurück. MARSH nahm aufgrund seiner Versuche an, daß bei hoher ATPase-Aktivität eine hohe ATP-Konzentration zum Erzielen einer Kontraktion erforderlich sei, bei niedriger ATPase-Aktivität eine niedrige. R. HAMM beschreibt 1956 auch bei totenstarrer Muskulatur eine erhöhte ATPase-Aktivität, die er auf die Desaktivierung des Marsh-Bendall-Faktors durch den ansteigenden Ca^{++} -Spiegel zurückführt. Die Beziehungen zwischen ATP-Konzentration und ATPase-Aktivität bei Kontraktionsversuchen und die Feststellung erhöhter ATPase-Aktivität im totenstarren Muskel waren Anlass, die

Wirkung hoher ATP-Konzentrationen auf den totenstarren Muskel zu prüfen. Außerdem geben WEBER (1951) und PORTZEHL (1952) höhere ATP-Konzentrationen als Hemmfaktor für die Myosin-ATPase-Wirkung an.

So ist es verständlich, daß sich mit 1500 - 2000 mg % ATP die erhöhte ATPase-Aktivität in sarkoplasmafreiem bzw. totenstarrem Muskelmaterial wieder verringern läßt.

Auffallend ist jedoch, daß die nach MARSH zur Kontraktion führende ATP-Konzentration im frischen bzw. sarkoplasmafreien Muskel größenordnungsmäßig den Konzentrationen entsprach, die geeignet waren, eine frische Muskelfaser weich zu erhalten, bzw. den rigor mortis einer Muskelfaser rückgängig zu machen.

In Versuch 16 wurde der Eintritt der Totenstarre an einer Muskelfaser durch Eintauchen in eine Tyrode-Lösung mit einem anfänglichen ATP-Gehalt von 300 mg % 7 Stunden lang verhindert. Danach wurde die ATP-haltige Lösung gegen eine ATP-freie Tyrode-Lösung ausgetauscht. 2 Stunden nach Entfernung der ATP-haltigen Lösung setzte eine allmählich zunehmende Versteifung in einem auffallend langen Zeitraum von 12 Stunden ein. Dieser Versuch legt den Schluß nahe, daß durch den ATP-Zusatz keine Schäden an der Muskelfaser verursacht wurden, die ihre Erstarrungsfähigkeit beeinträchtigen könnten.

7. Zusammenfassung

Bei Versuchen an lebendfrischen, menschlichen Skelettmuskelfasern mit fortlaufender Registrierung von Kraft-Dehnungs-Kurven wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1. In ATP-freier Tyrode-Lösung werden die Muskelfasern bei Eintritt der Totenstarre steifer, d.h. ihr E-Modul steigt an.
2. Die Zeitspanne bis zum Eintritt der Veränderung beträgt von der Entnahme an gerechnet 2 - 8 Stunden.
3. Der zeitliche Verlauf und das Ausmaß der Veränderung hängt von der Stärke der Belastung durch den Versuch ab.
4. Während der Versuche ist eine Zunahme der Ruhelänge der Muskeln um 20 - 70 % zu beobachten.
5. Zusatz von 300 mg % ATP zur Tyrode-Lösung zu Beginn des Versuches verhindert den Eintritt der Totenstarre.
6. Zusatz von 50 - 100 mg % ATP zu Beginn des Versuches verzögert den Eintritt der Totenstarre.
7. Zusatz von ATP (100 - 300 mg %) kurz vor Eintritt der Totenstarre verhindert den Eintritt der Totenstarre nicht.
8. Zusatz von hohen ATP-Konzentrationen (2000 mg %) zu totenstarren Muskelfasern führt zu einem kurzfristigen Abfall des E-Moduls.

Literaturverzeichnis

1. BATE-SMITH, E.C., J.R. BENDALL
Rigor mortis and adenosine triphosphate.
J. Physiol. 106, 177 (1947)
2. BATE-SMITH, E.C., J.R. BENDALL
Changes in muscle after death.
Brit. med. Bull. 12, 230 (1956)
3. BECK, R.
Untersuchungen über die mechanischen Eigenschaften des totenstarren, menschlichen Skelettmuskels.
Diss. Erlangen-Nürnberg, 1968
4. BENDALL, J.R.
The shortening of rabbit muscles during rigor mortis, its relation to the breakdown of adenosine triphosphate and creatine phosphate and to muscular contraction.
J. Physiol. 114, 71 (1951)
5. BENDALL, J.R.
The relaxing effect of myokinase on muscle fibres; its identity with the "Marsh"-factor.
Proc. roy. Soc. B 142, 409 (1954)
6. BENDALL, J.R., C.L. DAVEY
Ammonia liberation during rigor mortis and its relation to changes in the adenosine and inosine nucleotides of rabbit muscle.
Biochim.biophys.Acta (Amst.) 26, 93 (1957)

7. BERGMAYER, H.-U.
Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie-HmbH, Weinheim/Bergstr. 1962
8. BERNARD, C.
Leçon sur la diabète et la glycogénèse animale.
Baillière, Paris 1877
9. BRUCKE, E.
Über die Ursachen der Totenstarre.
Arch. f. Anat. Physiol. u. wissenschaftl. Med.
178, (1842)
10. BUCHTHAL, F., E. KAISER
The rheology of the cross striated muscle fibre.
Det. Kgl. Dansk. Vidensk. Selskab. Biol. Medd.
21, 1 (1951)
11. DÖRING, G., E. KONRINTH, O. SCHMIDT
Die postmortale Glycogenolysis im Muskel - ihr
Einfluß auf den ATP-Spiegel und die Totenstarre.
J. forens. Med. 9, 106 (1962)
12. ENGELHARDT, W.A.
Enzymatic and mechanical properties of
muscle proteins.
Yale J. Biol. Med. 15, 21 (1942)
13. ENGELHARDT, W.A., M.N. LJUBIMOVA
Myosine and adenosinetriphosphatase.
Nature (Lond.) 144, 668 (1939)

14. ERDÖS, T.
Rigor, contracture and ATP.
Stud.Inst.med.Chem.Univ. Szeged. 3, 51 (1943)
15. FARRANT, J.L., E.H. MERCER
Studies on the structure of muscle.
II. Arthropode muscle.
Exp. Cell. Res. 3, 553 (1952)
16. FENEIS, H.
Über die Anordnung und Bedeutung des Bindegewebes für die Mechanik der Skelettmuskulatur.
Morph. Jb. 76, 161 (1935)
17. FENEIS, H.
Zur Entfaltung des Skelettmuskels.
Morph. Jb. 91, 552 (1951)
18. FÜRTH von, O.
Die Kolloidchemie des Muskels und ihre Beziehungen zu den Problemen der Kontraktion und der Starre.
Ergebn. d. Physiol. 17, 363 (1919)
19. FÜRTH von, O, E. Lenk
Die Bedeutung von Quellungs- und Entquellungs Vorgängen für den Eintritt und die Lösung der Totenstarre.
Biochem. Z. 33, 341 (1911)
20. HALL, C.E., M.A. JAKUS, F.O. SCHMITT
An investigation of cross striations and myosin filaments in muscle.
Biol. Bull. 90, 32 (1946)

21. HAMM, R.
Über die Wirkung der ATP auf Hydratation und
Rigidität des postmortalen Rindermuskels.
Biochem. Z. 328, 309 (1956/57)
22. HUXLEY, H.E.
Electron microscope studies of the organisa-
tion of the filaments in striated muscle.
Biochim. biophys. Acta 12, 387 (1953)
23. HUXLEY, H.E.,
The ultra-structure of striated muscle.
Brit. med. Bull. 12, 171 (1956)
24. KÜHNE, W.
Untersuchungen über das Protoplasma und die
Kontraktilität.
Engelmann-Verlag, Leipzig 1864
25. KUSCHINSKY, G., F. TURBA
Über die Rolle der SH-Gruppen bei Vorgängen
am Aktomyosin, Myosin und Aktin.
Biochim. biophys. Acta 6, 426 (1950)
26. LAVES, W.
Über die Totenstarre.
Dtsch.Z.ges.gerichtl.Med. 39, 186 (1948/49)
27. LAWRIE, R.A.
The onset of rigor mortis in various muscles
of the draught horse.
J. Physiol. 121, 275 (1953)

28. LOHMANN, K.
Über die enzymatische Aufspaltung der Kreatin-
phosphorsäure; zugleich ein Beitrag zum Chemis-
mus der Muskelkontraktion.
Biochem. Z. 271, 264 (1934)
29. LUNDIN, G.
Mechanical properties of cardiac muscle.
Acta physiol. scand. 7, 1 (1944)
30. LUNDSGAARD, E.
Untersuchungen über Muskelkontraktionen ohne
Milchsäurebildung.
Biochem. Z. 217, 162 (1930)
31. MARSH, B.B.
The effects of ATP on the fibre volume of
a muscle homogenate.
Biochim. biophys. Acta 9, 247 (1952)
32. MEIGS, E.B.
Water rigor in frog's muscle.
J. Physiol. (Lond.) 39, 385 (1909/10)
33. MEIXNER, K.
Die Totenstarre beim Menschen.
Dtsch. Z.ges.gerichtl.Med. 2, 398 (1923)
34. NYSTEN
Recherches de physiologie et de chemie
pathologique.
Paris 1811, Hufelands Journal 43, (1816)

35. PERRY, S.V.
Relation between chemical and contractile
function and structure of the skeletal
muscle cell.
Physiol. Rev. 36, 1 (1956)
36. PORTZEHL, H.
Der Arbeitscyclus geordneter Aktomyosin-
systeme (Muskel und Muskelmodelle).
Z. Naturforsch. 7b, 1 (1952)
37. REICHEL, H.
Muskelphysiologie.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960
38. SCHIMMERT, J.
Über den feineren Bau einiger Muskeln des
Menschen mit besonderer Berücksichtigung
der Länge und Anordnung der quergestreiften
Muskelfasern.
Z. mikr. anat. Forsch. 36, 215 (1934)
39. SCHIPILOFF, C.
Über die Entstehungsweise der Muskelstarre.
Zbl. med. Wiss. 20, 291 (1882)
40. STÖHR, J. Ph. jr.
Lehrbuch der Histologie und der mikroskopi-
schen Anatomie.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1951

41. SULZER, R.
Über das Verhalten des Skelettmuskels in
Ruhe und in Kontraktur bei Dehnung.
Z. Biol. 87, 472 (1928)
42. SZENT-GYÖRGYI, A.
Studies from the Institute of Medical Chemistry.
Szeged, Bd. 1-3 (1941,1942,1943)
S. Karger, Basel-New York
43. SZENT-GYÖRGYI, A.
Studies on muscle.
Acta physiol. Scand. 2, Suppl. 25 (1945)
44. WACKER, L.
Die Kohlensäure des Muskels und ihre Beziehun-
gen zur Entstehung und Lösung der Totenstarre.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 165, 452 (1916)
45. WALLRAFF, J.
Leitfaden der Histologie des Menschen.
Urban und Schwarzenberg Verlag, München-Berlin 1963
46. WEBER, H.H.
Die Muskeleiweißkörper und der Feinbau
des Skelettmuskels.
Ergebn. Physiol. 36, 109 (1934)
47. WEBER, H.H.
Die Aktomyosinmodelle und der Kontraktions-
cyclus des Muskels.
Z. Elektrochem. angew. physik. Chem.
55, 511 (1951)

48. WEBER, H.H.
The motility of muscle and cells.
Harvard Univ. Press. Cambridge Massachusetts 1958
49. WINTERSTEIN, H.
Zur Kenntniss der Totenstarre.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 191, 184 (1921)
50. WINTERSTEIN, H.
Die Physiologie der Totenstarre.
Dtsch.Z.ges.gerichtl.Med. 2, 1 (1923)
51. ZINK, P.
Methoden zur Bestimmung der mechanischen
Eigenschaften der menschlichen Leichenhaut.
Dtsch.Z.ges.gerichtl.Med. 56, 349 (1965)

Lebenslauf

Name : Wolfgang F r e u d e

Geboren am : 20. Juli 1945

in : Karlshafen

Name der Eltern: Heinz Freude, Dipl.Ingenieur
und Ehefrau Gisela,
geb. Nörenberg

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung: 5 Jahre Volksschule in Herdecke/
Ruhr und Kornburg b. Nürnberg.
9 Jahre Oberrealschule bis zur
Reife in der Adam-Kraft-Schule
in Schwabach

Studiengang : Studium der Zahnmedizin vom
WS 1965/66 bis SS 1970

Prüfungen : Abitur am 20.7.1965
Zahnärztliche Vorprüfung
am 19.4.1968
Zahnärztliche Prüfung
am 11.12.1970

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
